

Institut de Médecine et de Chirurgie expérimentales, Université de Montréal,
Montreal, Canada

Blutungen in entzündeten Hautbezirken nach Behandlung mit Antikoagulantien

Von

HANS SELYE und BEATRIZ TUCHWEBER

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 26. August 1965)

Zusammenfassung. Nach peroraler Verabreichung von Dicumarol in Dosen, die die Blutgerinnung verhindern, entwickeln sich bei der Ratte hämorrhagische Nekrosen an Stellen, an denen verschiedene Entzündungserreger subcutan injiziert werden. Diese Läsionen scheinen sowohl von der chemischen Struktur der Entzündungserreger als auch von der histologischen Struktur der entstehenden Entzündungsherde weitgehend unabhängig zu sein. Bei Tieren, bei denen die Blutgerinnung durch Heparin gehemmt wird, bilden sich dagegen derartige Veränderungen an Entzündungsherden nicht aus.

Nach subcutaner Injektion von Carrageenan erzeugt die perorale Verabreichung von Dicumarol regelmäßig besonders schwere hämorrhagische Nekrosen, die den in der Klinik beobachteten „Cumarinnekrosen“ ähneln. Diese Versuchsanordnung stellt daher ein Modell dar, das sich zum weiteren Studium des Pathomechanismus und der eventuellen pharmakologischen Beeinflußbarkeit derartiger Läsionen eignet.

Es wurde wiederholt hervorgehoben, daß bei Patienten, die längere Zeit mit Cumarin- oder Indandion-Abkömmlingen behandelt werden, manchmal ausgedehnte hämorrhagische Hautnekrosen entstehen, während dies nach Heparinbehandlung nicht oder doch nur ganz ausnahmsweise der Fall ist^{1,2,5,6}. „Da sich unter den Patienten mit Nekrosen nach Antikoagulantienbehandlung viele ‚Vasoneurotiker‘ befinden, andererseits die Nekrosen in der Mehrzahl in einem bereits durch Operationen, Geburten, vorangegangene Phlebitiden, entzündliche Prozesse oder allergische Hautmanifestationen sicherlich funktionell gestörtem Hautgebiet auftreten, ließe sich auch die Lokalisation daraus ohne Schwierigkeiten ableiten“⁶. Die meisten Autoren, die sich mit diesem Gegenstand befaßt haben, ziehen jedoch auch die Möglichkeit in Betracht, daß es sich hier um eine Modifikation des sogenannten Shwartzman-Sanarelli-Phänomens handeln könnte^{1,5}.

In der Hoffnung, daß eine experimentelle Analyse derartiger Veränderungen nicht nur beim Studium der durch Antikoagulantien hervorgerufenen Hautnekrosen aufschlußreich wäre, sondern auch das Verständnis anderer, purpurischer Dermatosen fördern könnte, versuchten

wir ein leicht reproduzierbares Modell solcher Läsionen im Tierversuch auszuarbeiten. Ausgehend von der Annahme, daß chronische, entzündliche Veränderungen das Bindegewebe für die schädigende Wirkung der Antikoagulantien prädisponieren könnten, injizierten wir im ersten Versuch verschiedene Entzündungserreger subcutan bei Ratten, die wir dann entweder mit Dicumarol oder mit Heparin behandelten. Wie wir sehen werden, entwickelten sich in den entzündeten Regionen ausgedehnte, hämorrhagische Nekrosen nach Behandlung mit Dicumarol, nicht aber nach Injektion von Heparin. Unter den entzündungserregenden Stoffen erwies sich das pflanzliche Polysaccharid Carrageenan für derartige Zwecke besonders geeignet, da es an sich nur sehr wenig gewebsschädigend wirkt und nur eine milde, chronische, lokale Entzündung hervorruft, die sich jedoch nach Dicumarolverabreichung regelmäßig in einen großen hämorrhagisch-nekrotischen Herd verwandelt. Falls die Blutgerinnung jedoch anstatt durch Dicumarol durch Heparin verhindert wird, ist dies nicht der Fall. In einem zweiten Versuch wollten wir dann die besten Versuchsbedingungen für die Auslösung derartiger Dicumarolveränderungen ausarbeiten und die etwaige Beeinflussung derartiger Läsionen durch gleichzeitige Heparinisierung bestimmen.

Material und Methodik

Hundert weibliche Sprague-Dawley-Ratten des Holtzman-Stammes mit einem Anfangsgewicht von 100 g (95–105 g) wurden in 16 Gruppen für zwei Versuchsserien unterteilt und wie folgt behandelt:

Erste Versuchsserie (Tab. 1)

Zwölf Gruppen von je 5 Ratten wurden am ersten Versuchstag mit verschiedenen Entzündungserregern an drei Stellen (Scheitel, Mitte des Rückens, Lendengegend) subcutan injiziert. Die benutzten entzündungserregenden Mittel waren Agar U.S.P. (Brickman Co., Montreal, Canada), Carrageenan 21 (Marine Colloids Inc., New York 4, N.Y., U.S.A.), Eisenchlorid ($\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ Fisher Scientific Co., Fair Lawn, N.J., U.S.A.), Lycopodium (Brickman Co.) und Talcum (Fisher Co.) von denen 5 mg in 0,2 cm³ Wasser an jeder Injektionsstelle verabreicht wurde, während wir Crotonöl (Brickman Co.) als 20%ige Lösung in Maisöl verwendeten. Außerdem bekamen die Gruppen 1–6 Dicumarol in der Menge von 10 mg in 1 cm³ per os durch einen Magenschlauch einmal täglich. Den Gruppen 7–12 verabreichten wir ein langsam absorbierbares Heparin-Präparat (Depo-Heparin Sodium, Upjohn Co., Toronto, Ont., Canada) in der Dosis von 500 µg in 0,2 cm³ Wasser subcutan einmal täglich während der ersten 3 Tage, und dann in der Tagesdosis von 1 mg während des Restes der Versuchsdauer.

Zweite Versuchsserie (Tab. 2)

Vier Gruppen von je 10 Ratten bekamen 5 mg Carrageenan in 0,2 cm³ Wasser subcutan in der Scheitelgegend am ersten Versuchstag. Gruppe 1 bekam keine andere Behandlung, Gruppe 2 Dicumarol (8 mg in 1 cm³ per os täglich), Gruppe 3 Heparin (Depo-Heparin 300 µg in 0,2 cm³ Wasser subcutan zweimal täglich während

der ersten 3 Tage, dann 1 mg zweimal täglich bis zum Versuchsschluß), während Gruppe 4 gleichzeitig mit Dicumarol und Heparin wie Gruppe 2 und 3 behandelt wurde.

Die überlebenden Tiere beider Versuchsserien wurden mit Chloroform am 6. Tag getötet und die Intensität der hämorrhagischen Nekrosen im Sinne einer willkürlichen Skala geschätzt, in der 0 = keine Läsion, 1 = gerade noch sichtbare, 2 = mittelstarke, und 3 = besonders schwere Läsionen bedeutet. Die Mittelwerte dieser Schätzungen und die prozentuelle Sterblichkeitsrate sind in den Tabellen angegeben. Sofort nach der Autopsie wurden die behandelten Hautbezirke in Susa-Lösung fixiert und mit dem PAS-Verfahren gefärbt.

Ergebnisse

Erste Versuchsreihe

Entwicklung von Blutungen in entzündeten Hautbezirken nach Behandlung mit Antikoagulantien

Wie aus Tab. 1 ersichtlich ist, entwickelten sich bei den Dicumarol-behandelten Tieren (Gruppe 1—6) Hautblutungen ziemlich regelmäßig an den Stellen, wo die Subcutis mit verschiedenen Entzündungserregern

Tabelle 1
Blutungen in entzündeten Hautbezirken nach Behandlung mit Antikoagulantien

Gruppe	Behandlung	Hautblutungen (Skala 0—3)			Sterblich- keit (%)
		Scheitel	Rücken	Lenden- gegend	
1	Carrageenan + Dicumarol	3,0	2,0	0,8	20
2	Agar + Dicumarol	0,6	1,4	2,6	80
3	Crotonöl + Dicumarol	1,6	2,0	1,4	100
4	Talcum + Dicumarol	1,4	0,6	0	0
5	Lycopodium + Dicumarol	0,6	0,4	0,2	0
6	FeCl ₃ + Dicumarol	2,5	2,0	1,2	80
7	Carrageenan + Heparin	0	0	0	0
8	Agar + Heparin	0	0	0	0
9	Crotonöl + Heparin	0,6	0,4	0,6	0
10	Talcum + Heparin	0	0	0	0
11	Lycopodium + Heparin	0	0	0	0
12	FeCl ₃ + Heparin	0	0	0	0

behandelt wurde. Obwohl die Intensität dieser Reaktion manchmal aus der einen, manchmal aus der anderen Injektionsstelle am stärksten ausfiel, erwiesen sich doch alle drei hierauf geprüfte Hautregionen als mehr oder weniger empfindlich. Ganz besonders stark und konstant waren die Blutungen in der Scheitelgegend der mit Carrageenan behandelten Tiere der Gruppe 1 (Abb. 1), weshalb wir für unsere weiteren Studien diese Versuchsanordnung als Modell benutzten.

Bei den mit Heparin vorbehandelten Ratten (Gruppe 7—12) konnte hingegen niemals eine lokale Blutung an den mit Entzündungserregern

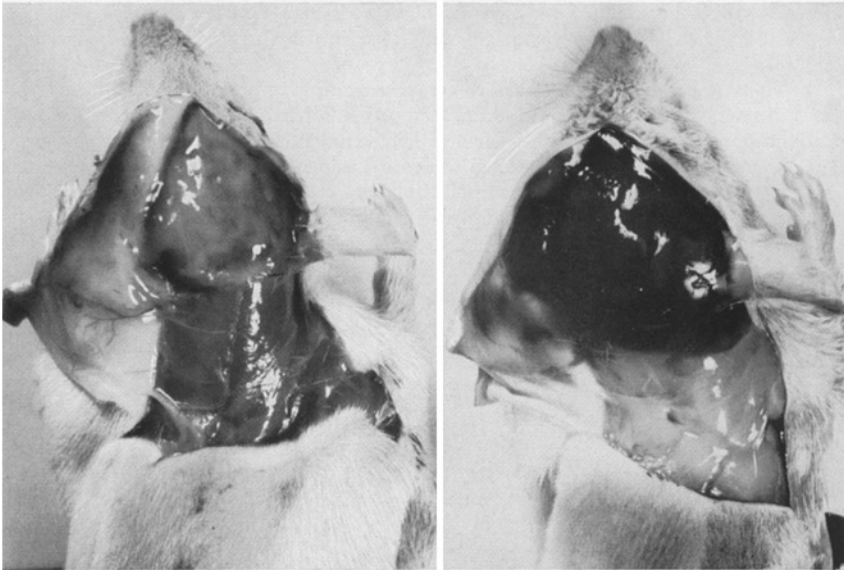


Abb. 1. Beide Ratten bekamen Carrageenan subcutan in der Scheitelgegend. *Links*: Ohne andere Behandlung erzeugt Carrageenan nur eine einfache Entzündung. *Rechts*: Nach peroraler Dicumarol-Behandlung verwandelt sich die Carrageenan-Injektionsstelle in eine ausgedehnte, hämorrhagische Nekrose

behandelten Stellen beobachtet werden, mit der Ausnahme der Crotonöl-Injektionsstelle, die jedoch nicht mit den anderen vergleichbar ist, da Crotonöl schon an sich eine hämorrhagische Entzündung hervorruft. Dies ging besonders klar aus einer weiteren (hier nicht geschilderten) Versuchsserie hervor, bei der wir dieselben Entzündungserreger ohne Antikoagulantien verabreichten. In diesem Falle erzeugte bloß Crotonöl eine lokale Blutung (die übrigens nicht stärker war als nach gleichzeitiger Heparinisierung), während die anderen, hier benutzten Irritantien nur eine einfache Entzündung ohne Blutung erzeugten.

Die histologische Untersuchung der entzündeten Hautbereiche bei den mit Dicumarol behandelten Tieren war nicht besonders aufschlußreich. Wir fanden nur eine ausgedehnte, schwere hämorrhagische Infiltration des Entzündungsbereiches der, je nach dem verwendeten Irritant, mehr oder weniger ödem Leukocyten oder Monocyten enthielt. Bei den heparinisierten Ratten war der Charakter der lokalen Entzündung derselbe, jedoch nicht hämorrhagisch infiltriert.

Zweite Versuchsreihe

Verschiedentlicher Einfluß von Dicumarol und Heparin auf eine durch Carrageenan hervorgerufene Hautentzündung

Um die Sterblichkeit zu vermindern, verwendeten wir in unserer zweiten Versuchsserie (wie unter „Material und Methodik“ angegeben)

eine geringere Menge von Dicumarol, die jedoch ebenso wie die von uns benutzte Dosis von Heparin genügte, um die Blutgerinnung zu verhindern. Wie aus Tab. 2 ersichtlich ist, erhielten wir hier wieder mit Dicumarol maximale, mit Heparin jedoch gar keine Blutungen an der Carrageenan-Injektionsstelle. Gleichzeitige Verabreichung von Heparin erhöhte zwar die Sterblichkeit, beeinflusste jedoch die durch Dicumarol hervorgerufenen Hautblutungen nicht.

Tabelle 2. *Verschiedentlicher Einfluß von Dicumarol und Heparin auf eine durch Carrageenan hervorgerufene Hautentzündung*

Gruppe	Behandlung*	Hautblutungen (Skala 0—3)	Sterblichkeit (%)
1	Keine	0	0
2	Dicumarol	3,0	10
3	Heparin	0	0
4	Dicumarol + Heparin	3,0	70

* Außer den hier angeführten Agenzien bekamen die Ratten aller Gruppen 5 mg Carrageenan subcutan injiziert wie im Text angegeben.

Diskussion

Es geht aus unseren Versuchsergebnissen klar hervor, daß Dicumarol in entzündeten Hautbezirken ziemlich regelmäßig hämorrhagische Nekrosen hervorruft, während Heparin in dieser Beziehung unwirksam ist. Die Entstehung der Dicumarol-Läsionen ist sowohl vom chemischen Charakter der Entzündungserreger als auch von der histologischen Struktur der durch verschiedene Agenzien ausgelösten Entzündung weitgehend unabhängig. Wahrscheinlich setzen die verschiedensten Entzündungserreger die Resistenz der Gefäßwand herab; es geht jedoch aus unseren Versuchen nicht hervor, auf welchem Wege diese Gefäßschädigung hervorgerufen wird. Anscheinend handelt es sich hier aber nicht um eine Blutungstendenz, die bei Herabsetzung der Blutgerinnbarkeit automatisch eintritt, da sie nur nach Dicumarol und nicht nach Heparin zu beobachten ist.

Unseres Wissens konnten die in der Klinik beobachteten „Cumarinnekrosen“ bisher im Tierexperiment noch nicht reproduziert werden. Es ist jedoch in diesem Zusammenhang interessant, daß JAKUES^{3,4} schon vor mehreren Jahren ein sogenanntes „hämorrhagisches Stress-Syndrom“ beschrieb, das unter dem Einfluß verschiedener Stressoren bei mit Cumarin oder Indandion vorbehandelten Kaninchen in Form multipler Hämorrhagien in verschiedenen Organen auftrat. Dieses Phänomen war bei, mit Heparin behandelten Tieren nicht auslösbar. Möglicherweise bestehen zwischen diesem Syndrom und den von uns beobachteten, durch lokale Gewebsreizung hervorgerufenen hämorrhagischen Nekrosen enge Beziehungen.

Weitere Versuche werden zeigen müssen, ob verschiedene Cumarin- und Indandion-Abkömmlinge, ebenso wie Dicumarol selbst, für das Auftreten hämorrhagischer Nekrosen an entzündeten Hautbereichen sensibilisieren können, ob auch entzündete innere Organe auf diese Weise reagieren und ob andererseits Heparin-Abkömmlinge und Heparinoide ebenso wie Heparin in dieser Beziehung unwirksam sind. Jedenfalls haben wir jedoch jetzt im Dicumarol-Carrageenan-Test eine Versuchsanordnung, die verlässlich bei der Ratte hämorrhagische Nekrosen im Entzündungsbereich hervorrufen kann und für weitere Studien über den Mechanismus dieser Reaktion und ihrer eventuellen Verhütung durch Pharmaka verwendbar ist.

Alle diesem Referat zugrundeliegenden Untersuchungen wurden mit Unterstützung des U.S. Army Medical Research and Development Command (Contract No. DA-49-193-MD-2039), dem USPHS, National Heart Institute (Grant No. HE-06182-04) und der Canadian Heart Foundation ausgeführt.

Die Autoren danken Marine Colloids Inc., New York 4, N.Y., U.S.A., für Carra-geenan 21 und Upjohn Co. Ltd., Toronto, Ont., Canada, für Depo-Heparin Sodium.

Literatur

- ¹ BELLER, F. K.: Arzneimittelschäden von Antikoagulantien und Thrombolytica. *Internist* **1**, 442 (1960).
- ² COLOMBO, O.: Über eine seltene Komplikation bei Antikoagulantienbehandlung. *Zbl. Chir.* **90**, 441 (1965).
- ³ JAUQUES, L. B.: Experimental hemorrhage and thrombosis. *Atti. Accad. med. lombarda* **16**, 550 (1961).
- ⁴ — Stress and multiple-factor etiology of bleeding. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **115**, 78 (1964).
- ⁵ NALBANDIAN, R. M., I. J. MADER, J. L. BARRETT, J. F. PEARCE, and E. C. RUPP: Petechiae, ecchymoses, and necrosis of skin induced by coumarin congeners. *J. Amer. med. Ass.* **192**, 107 (1965).
- ⁶ STACHER, A.: Zur Pathogenese der Hautnekrosen bei Antikoagulantientherapie. *Wien. klin. Wschr.* **75**, 820 (1963).

Professor Dr. HANS SELYE,
Institut de Médecine et de Chirurgie expérimentales, Université de Montréal,
Case postale 6128, Montreal, Canada